



Método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica

Neutrosophic method for the analysis of the antibiotic resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis.

Andrea Carolina Vela Chiriboga¹, Kevin Marcelo Lozada Escobar², and Paúl Sebastián Bedoya Lozada³

¹ Universidad Regional Autónoma de Los Andes, Ambato, Ecuador. direccionveterinaria@uniandes.edu.ec

² Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. klozada0842@uta.edu.ec

³ Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. pbedoya1214@uta.edu.ec

Resumen. La mastitis subclínica es una enfermedad de gran impacto en la producción lechera, que requiere un abordaje integral para su control y prevención. Uno de los microorganismos responsables de esta patología en bovinos lecheros es *Staphylococcus aureus*, un patógeno que puede causar infecciones graves y de difícil manejo terapéutico debido a la creciente resistencia antimicrobiana. En este contexto, el objetivo de esta investigación es desarrollar un Método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica. Se determinó el perfil de resistencia antibiótica de cepas de *S. aureus* aisladas de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en la provincia de Tungurahua, Ecuador, con un énfasis en la resistencia a antibióticos β -lactámicos. Los resultados obtenidos demuestran que una proporción importante de los aislados presentaron resistencia a antibióticos comúnmente utilizados en el tratamiento de infecciones en el ganado bovino, como la oxacilina y la tetraciclina. Este análisis no solo permite entender la situación actual de la resistencia antimicrobiana en la región, sino que también proporciona una base sólida para el desarrollo de estrategias efectivas de manejo y tratamiento, contribuyendo así a la sostenibilidad de la producción lechera y mejorando la salud de los animales afectados.

Palabras Claves: método neutrosófico, SARM, mastitis subclínica, resistencia antibiótica.

Abstract. Subclinical mastitis is a disease with a major impact on dairy production, which requires a comprehensive approach for its control and prevention. One of the microorganisms responsible for this pathology in dairy cattle is *Staphylococcus aureus*, a pathogen that can cause serious infections and is difficult to treat therapeutically due to increasing antimicrobial resistance. In this context, the objective of this research is to develop a neutrosophic method for the analysis of the antibiotic resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis. The antibiotic resistance profile of *S. aureus* strains isolated from milk samples of cows with subclinical mastitis in the province of Tungurahua, Ecuador, was determined, with an emphasis on resistance to β -lactam antibiotics. The results obtained show that a significant proportion of the isolates were resistant to antibiotics commonly used in the treatment of infections in cattle, such as oxacillin and tetracycline. This analysis not only allows us to understand the current situation of antimicrobial resistance in the region, but also provides a solid basis for the development of effective management and treatment strategies, thus contributing to the sustainability of dairy production and improving the health of affected animals.

Keywords: neutrosophic method, MRSA, subclinical mastitis, antibiotic resistance

1 Introducción

La mastitis, definida como la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más prevalente en el ganado bovino lechero [1]. Es responsable de importantes pérdidas económicas en la industria láctea debido a que causa alteraciones en la composición y calidad de la leche [2]. La bacteria *Staphylococcus aureus* es uno de los principales patógenos asociados a la mastitis en bovinos y el uso indiscriminado de antibióticos para su tratamiento ha promovido la selección de cepas resistentes a antibióticos, sobre todo a aquellos pertenecientes al grupo de β -lactámicos, los más utilizados para esta enfermedad. Por este motivo, se ha denominado a estas cepas resistentes como *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) [3].

De acuerdo con estudio publicado por Zaatout y Heizel en 2020, la prevalencia de SARM en muestras de leche de animales con mastitis clínica y subclínica ha ido en aumento en los últimos años a nivel mundial (1.78% en 2011 vs. 5.3% en 2020). Los autores reportan una prevalencia de 6.47% en Asia, de 3.94% en África, en América la prevalencia es de 2.39% y finalmente en Europa es de 1.18% [1].

Las cepas SARM contienen genes codificadores de toxinas (que mejoran el ambiente para la colonización) y adhesinas de membrana (necesarias para colonización de la célula huésped) que facilitan su diseminación [4]. Por lo tanto, es necesario mantener un monitoreo constante de la prevalencia y de los factores de riesgo de estas bacterias de importancia clínica [5].

Se han reportado casos en personas de infecciones SARM de origen animal en varios países europeos, con cuadros clínicos que varían desde simples dermatitis hasta infecciones sistémicas que constituyen una amenaza para la vida del individuo. De esta forma, se considera a las infecciones por SARM de origen animal como potenciales amenazas globales para la salud humana y animal [6,25].

En el Ecuador, el sector lechero genera aproximadamente 1,3 millones de empleos y el 65% de su producción deriva de pequeños y medianos productores. En 2022, la producción de leche alcanzó un total de 5,5 millones de litros, de los cuales más del 50% se comercializaron de forma informal, sin tomar medidas para asegurar su inocuidad y la de sus derivados. Por tanto, existe un riesgo latente de diseminación de SARM a la población general [7]. En este contexto, el objetivo de esta investigación es desarrollar un Método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica.

2 Materiales y métodos

El análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica, puede ser modelado como un problema de toma de decisión multicriterio [8]. De modo que se tenga [9, 10,26]:

- Un conjunto de vacas con mastitis subclínica por *Staphylococcus aureus* $R = \{R_1, \dots, R_n\}$, $n \geq 2$;
- Que son expuestos al conjunto de alternativas que representan los tratamientos antibióticos, objetos de estudio $I = \{I_1, \dots, I_m\}$, $m \geq 2$;

El análisis está conformado por el grupo de criterios que determinan el perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica, que pueden ser modelado mediante los números neutrosóficos propuestos por Smarandache [9, 11].

El nivel de impacto de un criterio se puede expresar mediante una relación directa de su influencia o la negación de este con un espectro de neutralidad representando un dominio numérico neutrosófico de Valor Único (SVN por sus siglas en inglés). El nivel de impacto es expresado mediante tres condiciones:

- Un criterio $\langle A \rangle$ puede implicar negativamente por un criterio $\langle B \rangle$ de modo que si $\langle A \rangle$ disminuye $\langle B \rangle$ disminuye según el nivel de implicación entre los conceptos con un grado de neutralidad $\langle \text{neut}A \rangle$.
- Un criterio $\langle A \rangle$ puede implicar positivamente por un criterio $\langle B \rangle$ de modo que si $\langle A \rangle$ incrementa B incrementa según el nivel de implicación entre los conceptos con un grado de neutralidad $\langle \text{neut}A \rangle$.
- Un criterio $\langle A \rangle$ no posee implicación por un criterio $\langle B \rangle$ de modo que las variaciones de $\langle A \rangle$ no poseen implicación en $\langle B \rangle$.

La definición original de valor de verdad en la lógica neutrosófica es mostrado como [12-15]:

Sean $N = \{(T, I, F) : T, I, F \subseteq [0, 1]\}n$. Un valor neutrosófico es un mapeo de un grupo de fórmulas proporcionales a N , a partir de cada sentencia p se tiene:

$$v(p) = (T, I, F) \quad (1)$$

El método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica, se diseñó mediante un flujo de trabajo compuesto por cuatro actividades que en su integración realizan el análisis mediante el comportamiento de los criterios específicos. A continuación se realiza una descripción de las actividades propuestas en la figura 1.

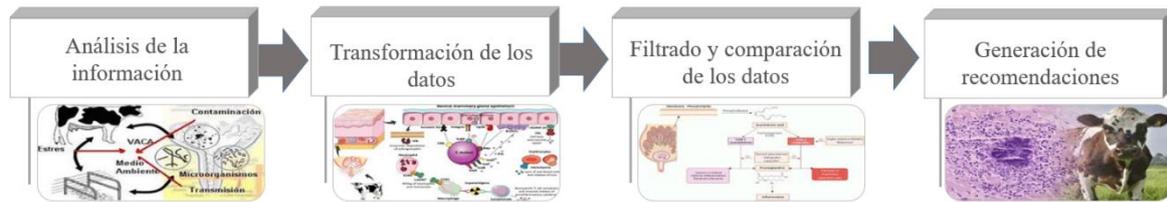


Figura 1. Flujo de trabajo compuesto por cuatro actividades.

Actividad 1 análisis de la información

Para nutrir el funcionamiento del método propuesto, se identifican las fuentes de información y luego se almacenan en bases de datos para su posterior transformación y análisis. Dicha actividad utiliza la base de conocimiento empírica organizacional. Consiste en la recolección de informaciones históricas almacenadas resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica.

Apoyado en la neutrosofía se obtiene una mejor interpretabilidad de los datos, utilizan los conjuntos SVNS los cuales permiten el empleo de variable lingüísticas. Los criterios de evaluación son expresados mediante un universo de discurso se denota como (X). Donde el conjunto neutrosófico de valor único se define como A sobre X, el cual es un objeto de la forma, como se muestra en la ecuación 2.

$$A = \{x, uA(x), rA(x), vA(x)\}: x \in X\}d \tag{2}$$

Donde: $(x)X \rightarrow [0,1], rA(x) \rightarrow [0,1], vA(x) \rightarrow [0,1];$ con $0 \leq uA(x) + rA(x) + vA(x) \leq 3$ para todo $x \in X$. El intervalo $(x), rA(x)$ y $vA(x)$ denotan las membrecías a verdadero, indeterminado y falso de x en A, sucesivamente. El valor del conjunto neutrosófico de se expresa tal como muestra la ecuación 3.

$$A = (a, b, c) \tag{3}$$

Donde: a, b, c $\in [0,1], a+b+c \leq 3$

Actividad 2 transformación de los datos

Cada dato describe las características asociadas a los criterios, a partir de números neutrosóficos.

Definición 1: Sea $A^* = (A_1^*, A_2^*, \dots, A_n^*)$ sea un vector de números SVN, tal que: $A_j^* = (a_j^*, b_j^*, c_j^*), j=(1,2, \dots, n), B_i = (B_{i1}, B_{i2}, \dots, B_{im}) (i = 1,2, \dots, m)$, sean m vectores de n SVN números. Tal que $B_{ij} = (a_{ij}, b_{ij}, c_{ij})(i = 1,2, \dots, m), (j = 1,2, \dots, n)$, Las B_i y A^* obtenido mediante la ecuación 4:

$$d_i = \left(\frac{1}{3} \sum_{j=1}^n \left\{ (|a_{ij} - a_j^*|)^2 + (|b_{ij} - b_j^*|)^2 + (|c_{ij} - c_j^*|)^2 \right\} \right)^{\frac{1}{2}} \tag{4}$$

$(i = 1,2,3 \dots, m)$

Se emplea la media de similaridad a partir de la obtención de la distancia euclidiana tal como expresa la ecuación 5.

$$F_{a_j} = \{v_1^j, \dots, v_k^j, \dots, v_l^j\}, j = 1, \dots, n \tag{5}$$

El cálculo permite la obtención de la medida de la alternativa A_i , a partir de la similitud el método, se debe buscar cuál de los datos tienen mayor cercanía al conjunto solución S_i , mediante la vecindad se obtiene un orden de las alternativas. Mientras más pequeña sea la vecindad mayor será la similitud [16].

Actividad 3 Filtrado y comparación de los datos

La actividad consiste en evaluar el comportamiento de los indicadores de análisis para un determinado caso de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vaca con mastitis subclínica. Para ello se utiliza la escala lingüística $S, V_k^j \in S$.

Donde: $S = \{S_1, \dots, S_g\}$ representan el conjunto de etiquetas lingüísticas para evaluar las características del caso de resistencia antibiótica C_k .

La evaluación realizada es considerada la preferencia del proceso a partir de la cual se obtienen:

$$P = \{P_1, \dots, P_e\},$$

Los valores obtenidos son comparados con los datos almacenados previamente, se realiza un proceso de comparación mediante la distancia euclidiana tal como expresa la ecuación (6).

$$S=1-\left(\frac{1}{3}\sum_{j=1}^n \left\{(|a_{ij}-a_j^*|)^2+(|b_{ij}-b_j^*|)^2+(|c_{ij}-c_j^*|)^2\right\}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (6)$$

La función S determina la similitud entre los valores de los datos almacenados y las preferencias obtenidas realizando la comparación con toda la vecindad existente.

Actividad 4 Generación de recomendaciones

A partir de la obtención de la similitud, se realiza el proceso de recomendaciones. Las recomendaciones se realizan a partir de los datos almacenados. Consiste en generar un ordenamiento sobre la vecindad de similitud. El mejor resultado será aquel que satisfaga las necesidades que caracterizan el caso. En términos matemáticos, los que obtengan mayor similitud.

3 Resultado y discusión

El método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica, fue implementado en 2 hatos lecheros de la Parroquia Cunchibamba, cantón Ambato y 3 hatos lecheros de Parroquia Yanayacu, cantón Quero de la provincia de Tungurahua, Ecuador. La investigación para nutrir la base de casos, y evitar el típico *cold start* de los sistemas de recomendación, se llevó a cabo en 3 fases, las mismas que se describen a continuación:

Fase 1 Identificación de las vacas con mastitis subclínica por medio de la prueba Californian Mastitis Test (CMT): Se realizaron pruebas de CMT a todos los animales adultos que se encontraban en ordeño, sin tomar en cuenta edad, raza, o número de lactancia. Las muestras de leche para aislamiento e identificación de SARM se tomaron de todos los animales positivos a mastitis subclínica mediante la prueba de CMT. El protocolo para la prueba de CMT se describe a continuación: después de la limpieza y secado de los pezones se desechó la leche del preordeño (despunte). Enseguida se tomaron 2 ml de leche de cada cuarto mamario en los pocillos paleta de fondo oscuro y se procedió a añadir 2ml del reactivo en cada pocillo. Se mezcló usando movimientos circulares suaves y se identificaron aquellas muestras que presentaban reacciones de gelificación de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 1. Clasificación de las muestras de acuerdo a las reacciones observadas en la prueba de CMT (9).

Categoría	Puntuación	Descripción de la reacción
Negativo	0	La mezcla de leche y el líquido de prueba permanece sin cambios y se puede agitar fácilmente
Débilmente positivo	1	La mezcla es ligeramente mucosa pero aún se puede agitar
Positivo	2	Con el movimiento de la mezcla se puede observar una formación mucosa inconfundible. Todavía es posible verter una pequeña porción de la mezcla.
Fuertemente positivo	3	Se forma una consistencia gelatinosa y mucosa y es difícil agitar la mezcla. Ya no es posible verter el exceso de líquido.

Fase 2 Identificación fenotípica de *S. aureus* a través de cultivo microbiológico a partir de las muestras de leche seleccionadas: Las muestras de leche se transportaron al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a la toma de muestra, conservadas a 4°C. Una vez en el laboratorio se homogenizaron y se sembraron 500 µl de cada una en agar base sangre de ovino como pre-enriquecimiento y para la identificación de microorganismos β-hemolíticos, que se observaron como colonias con un halo transparente a su alrededor, resultado de la destrucción de glóbulos rojos. De aquellos microorganismos β-hemolíticos se seleccionaron, mediante inspección visual, colonias compatibles con *S. aureus*, es decir colonias de una coloración amarilla o blanca, de gran tamaño, cremosas, opacas y con borde circular. Una vez identificadas las colonias se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas para corroborar que los microorganismos aislados corresponden a *S. aureus*, según los protocolos recomendados por Moraes, et al. (10) y Smith, et al.(11):

Tabla 2. Pruebas bioquímicas para la identificación de *S.aureus* (10,11).

Pruebas bioquímicas		
Tinción Gram	Cocos Gram positivos	Cocos Gram negativos
		Los <i>Staphylococcus</i> se observan en forma de racimos de uvas, color azul o violeta.
Sal manitol	Color amarillo	Color rojo
	<i>S. aureus</i> : fermentan el manitol, cambia el pH del medio y el indicador (rojo fenol) cambia a amarillo.	Otros <i>Staphylococcus</i> : los microorganismos no tienen la capacidad de fermentar el manitol.
Catalasa	Positivo	Negativo
	<i>S. aureus</i> : produce la enzima catalasa. Se observa la presencia de burbujas al contacto con peróxido de hidrógeno.	Otros <i>Staphylococcus</i> : No producen la enzima catalasa. No hay la presencia de burbujas al contacto con peróxido de hidrógeno.
Coagulasa	Positiva	Negativa
	<i>S. aureus</i> : tiene la capacidad de producir la enzima coagulasa. Se observa la formación de coágulos en suero fresco de bovino.	Otros <i>Staphylococcus</i> : No tienen la capacidad de producir el enzima coagulasa. No se observa formación de coágulos en suero fresco de bovino.

Fase 3 Identificación de cepas *S aureus* resistentes a los antibióticos expuestos por medio del método de difusión en disco Kirby Bauer: Este método de difusión en disco es el recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos cuyo objetivo es establecer en forma cuantitativa el efecto de varias sustancias sobre las cepas bacterianas aisladas. Esta fase se realizó de siguiendo el protocolo descrito por Hudzicki (12) utilizando los siguientes antibióticos: penicilina G, oxacilina, ciprofloxacina, azitromicina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, rifampicina, clindamicina, novobiocina y linezolid. Se interpretó la sensibilidad a los antibióticos de acuerdo con el manual publicado por *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*, 2023 (13). Todos los ensayos se realizaron en triplicado.

Todos los resultados fueron almacenados en una base de casos para nutrir el método neutrosófico. Para ejemplificar la implementación del mismo, los resultados son representados mediante las alternativas I, de modo que:

$$I = \{i_1, i_2, i_3\},$$

Valorado a partir del conjunto de características C que describen los perfiles de resistencia antibiótica de *S aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica, tal que:

$$C = \{c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_6\},$$

Donde:

c_1 : Sensibilidad a antibióticos específicos: Evaluar la sensibilidad de los aislados de *Staphylococcus aureus* a diferentes grupos de antibióticos (como betalactámicos, macrólidos, tetraciclinas y sulfonamidas) utilizando métodos de difusión en disco o microdilución. Identificar qué antibióticos son eficaces y cuáles muestran resistencia.

c_2 : Mecanismos de Resistencia: Identificar los mecanismos moleculares de resistencia presentes en los aislados, como la producción de enzimas β -lactamasas, alteraciones en la permeabilidad de la membrana o bombas de eflujo. Esto se puede lograr mediante técnicas genéticas o bioquímicas.

c_3 : Patrones de multiresistencia: Evaluar si los aislamientos presentan patrones de resistencia a múltiples antibióticos (multiresistencia), lo que podría indicar la presencia de plásmidos o genes de resistencia. Esto es crucial para comprender la gravedad de la resistencia y las opciones de tratamiento.

c_4 : Epidemiología local y temporal: Analizar la prevalencia de diferentes perfiles de resistencia en una población de vacas a lo largo del tiempo y en diferentes explotaciones. Esto incluye la recopilación de datos sobre el uso de antibióticos en la ganadería y su relación con la resistencia observada.

c_5 : Evaluación de la virulencia: Considerar la capacidad del aislado para producir factores de virulencia que faciliten su capacidad para causar enfermedad. Esto puede incluir la producción de toxinas o adhesinas, lo que puede influir en la gravedad de la mastitis y en la respuesta a los tratamientos antibióticos.

c_6 : Interacción con el microbioma: Evaluar cómo los aislados de *Staphylococcus aureus* interactúan con otras bacterias presentes en el microbioma de la ubre y en la leche. Esto puede implicar estudios sobre la competencia entre diferentes especies bacterianas y cómo estas interacciones pueden afectar la resistencia a antibióticos. Un microbioma saludable puede ayudar a prevenir infecciones, mientras que una alteración en su equilibrio podría favorecer la proliferación de patógenos resistentes.

A partir del conjunto de etiquetas lingüísticas que se presenta en la tabla 3 [17,27]:

Tabla 3: Términos lingüísticos empleados.

Término lingüístico	Números SVN
Extremadamente buena (EB)	(1,0,0)
Muy muy buena (MMB)	(0.9, 0.1, 0.1)
Muy buena (MB)	(0.8,0,15,0.20)
Buena (B)	(0.70,0.25,0.30)
Medianamente buena (MDB)	(0.60,0.35,0.40)
Media (M)	(0.50,0.50,0.50)
Medianamente mala (MDM)	(0.40,0.65,0.60)
Mala (MA)	(0.30,0.75,0.70)
Muy mala (MM)	(0.20,0.85,0.80)
Muy muy mala (MMM)	(0.10,0.90,0.90)
Extremadamente mala (EM)	(0,1,1)

A partir de la aplicación del método se obtienen como resultado la expresión de comparación que se muestra en la expresión 5, estos datos son almacenados en la base de caso para nuevos análisis.

$$P_e = \{B, MB, B, M, MMB, B\} \tag{7}$$

A partir de la corrida de los datos, se obtiene su filtrado que proporciona un mapa para cada vaca con mastitis subclínica (alternativa) que presenta un perfil de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado, objeto de análisis. Las Figuras 2 a 8 presentan el mapa de datos obtenido para 7 ejemplares en estudio.

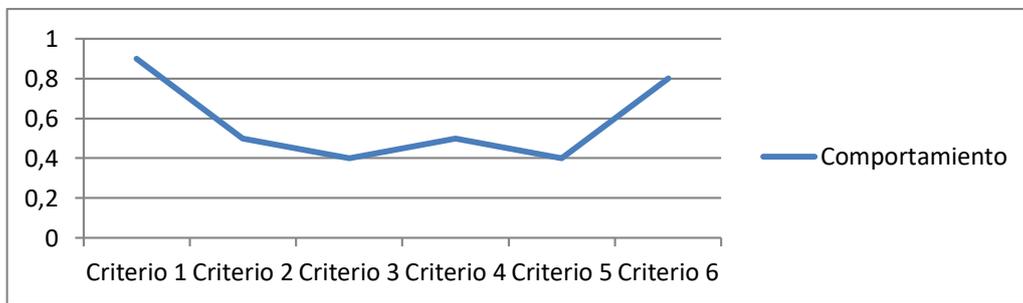


Figura 2: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 1.

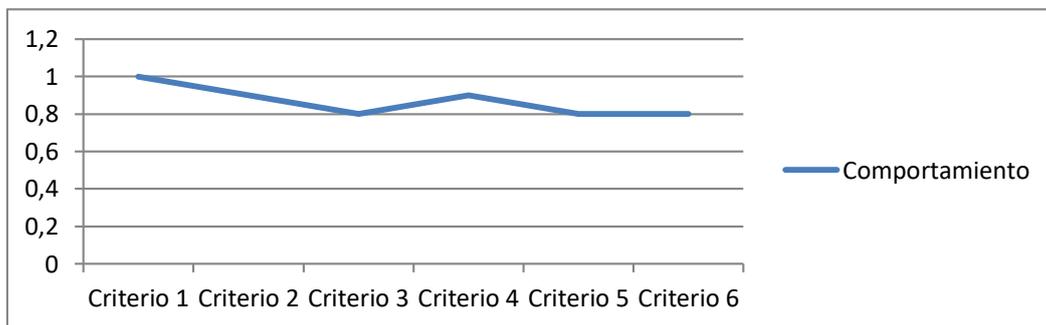


Figura 3: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 2.

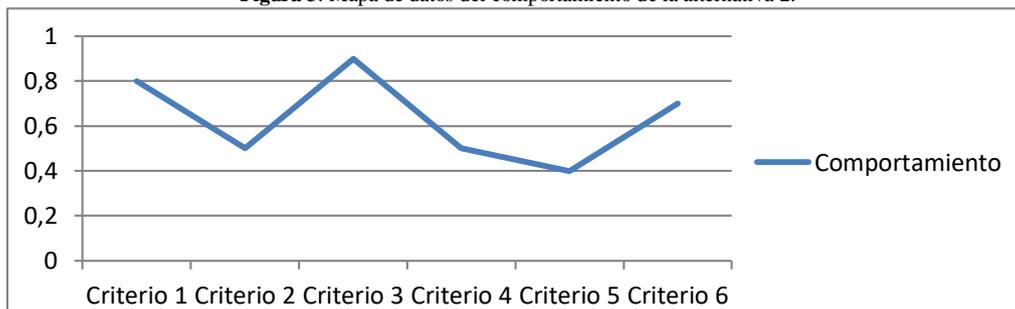


Figura 4: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 3.

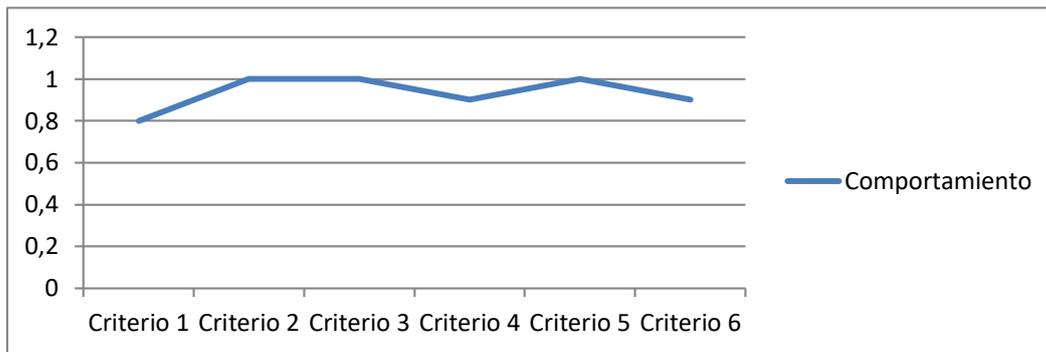


Figura 5: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 4.

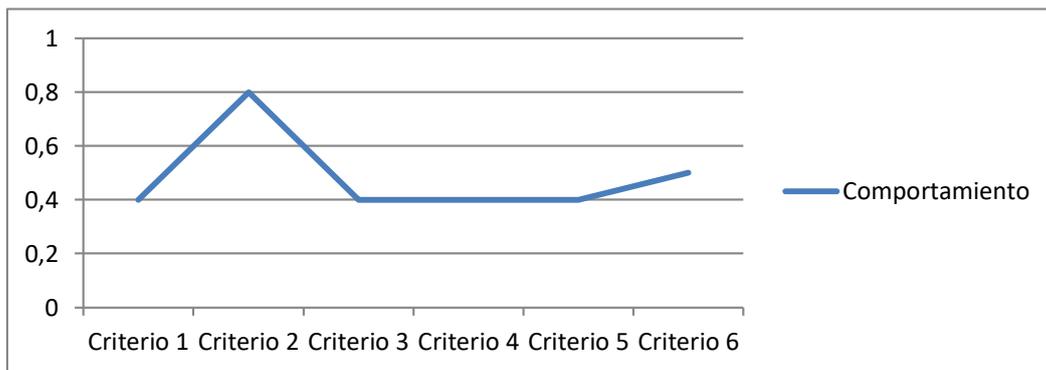


Figura 6: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 5.

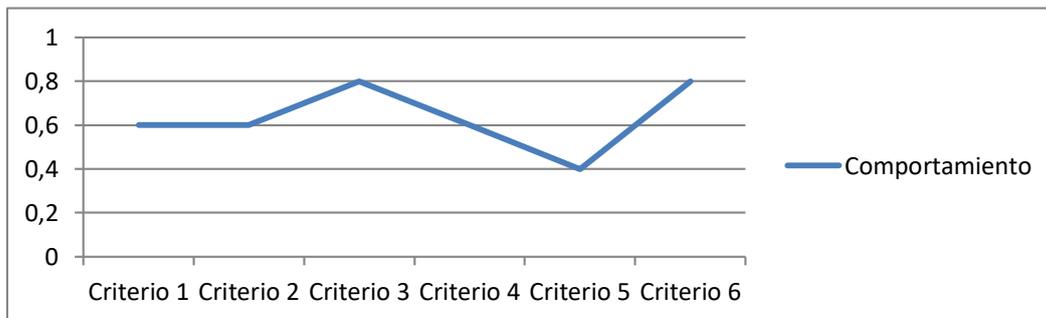


Figura 7: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 6.

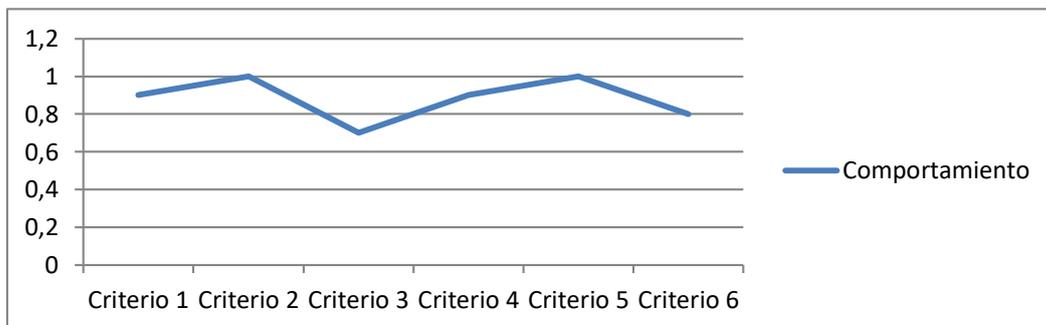


Figura 8: Mapa de datos del comportamiento de la alternativa 7.

Una vez obtenido el mapa de las alternativas se obtuvo el cálculo de la similitud que se muestra mediante la tabla 4.

Tabla 4: Similitud entre los casos y el perfil de análisis.

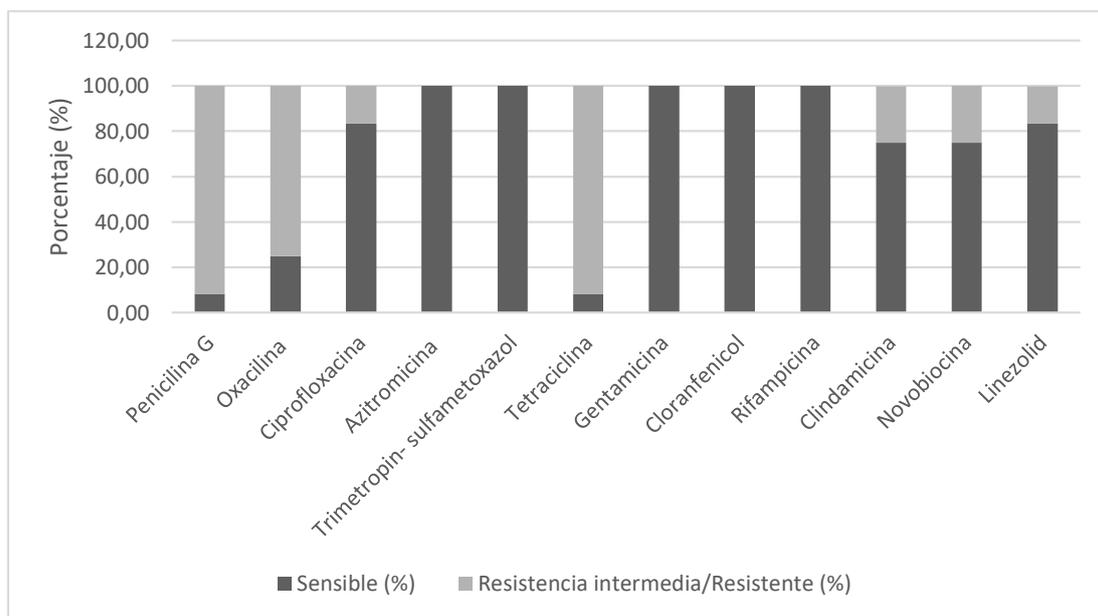
a_1	a_2	a_3	a_4	a_5	a_6	a_7
0.25	0.95	0.45	0.80	0.15	0.75	0.80

A partir del análisis de los resultados se realiza el proceso de ordenamiento de alternativas. En la simulación se visualizan las alternativas objeto de atención. La expresión 8 muestra el resultado del ordenamiento realizado.

$$\{a_2, a_4, a_7\} \quad (8)$$

A partir del ordenamiento, el método realiza como recomendación la (a_4) que se corresponde con el perfil más preciso de resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado, el cual deberá ser tomado como referencia en primera instancia, y posteriormente (a_5) como segundo caso de referencia.

Las muestras compatibles con las características metabólicas de *S.aureus* fueron seleccionadas para construir el perfil de resistencia antibiótica mediante la técnica de difusión en disco Kirby Bauer. Se utilizaron los siguientes antibióticos: penicilina G, oxacilina, ciprofloxacina, azitromicina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, rifampicina, clindamicina, novobiocina y linezolid. El perfil de resistencia obtenido fue el siguiente: la mayor parte de los aislados, 91.67% (n=11/12), fueron resistentes a penicilina G y a tetraciclina, seguido por un 75% (n=9/12) muestras que presentaron resistencia a oxacilina, en tercer lugar, el 25% (n=4/12) de aislados fueron resistentes a clindamicina y novobiocina y, por último, el 16.6% (n=2/12) mostraron resistencia a linezolid y ciprofloxacina. Por otro lado, el 100% (n=12/12) de los microorganismos resultaron ser sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol, azitromicina, cloranfenicol, y rifampicina. En la figura 9 se resumen los resultados obtenidos.

**Figura 9.** Perfil de resistencia antibiótica de *S. aureus* aislado de muestras de leche de vacas positivas a mastitis subclínica.

4 Discusión

La mastitis subclínica es una preocupación significativa en la producción lechera, ya que puede llevar a una reducción en la producción y calidad de la leche, así como a una mayor susceptibilidad a la mastitis clínica. Uno de los principales agentes etiológicos de la mastitis subclínica es *S. aureus*. Comprender el perfil de resistencia a los antibióticos de las bacterias aisladas de casos de mastitis subclínica es crucial para implementar estrategias efectivas de tratamiento y prevención [18].

La prevalencia de mastitis subclínica encontrada en este estudio, del 35%, es consistente con otros informes de Ecuador. Por ejemplo, un estudio realizado en la provincia de Chimborazo en Ecuador reportó una prevalencia de mastitis subclínica del 40% en hatos lecheros [19,28]. Otro estudio en la provincia de Manabí encontró una prevalencia del 38% [20]. Estos hallazgos sugieren que la mastitis subclínica es un problema generalizado que afecta a una proporción significativa de animales lecheros en varias regiones de Ecuador.

Tras realizar las pruebas de microbiológicas y bioquímicas previamente descritas se logró aislar *S. aureus* en un 46% (n=12/26) de las muestras de leche tomadas de animales positivos a mastitis subclínica. Este resultado es consistente con estudios previos realizados en la región, que han reportado tasas de aislamiento de esta bacteria en

casos de mastitis subclínica entre 40-60% [21]. La alta prevalencia de este patógeno sugiere que las medidas de control y prevención implementadas hasta el momento han sido insuficientes para reducir efectivamente su incidencia en los hatos lecheros. Factores como la falta de higiene durante el ordeño, el uso inapropiado de antibióticos y la ausencia de programas de vigilancia epidemiológica han contribuido a la persistencia de *S. aureus* como uno de los principales agentes causales de mastitis subclínica en la región [21]. Estos hallazgos subrayan la necesidad urgente de fortalecer las estrategias de manejo y bioseguridad en las explotaciones lecheras para mitigar el impacto de esta problemática. [29,30]

En cuanto al perfil de resistencia antibiótica, en nuestra investigación más de la mitad de las cepas de *S. aureus* aisladas de casos de mastitis subclínica son resistentes a oxacilina, lo que significa que son cepas SARM. La presencia de estos microorganismos representa un serio riesgo para la salud pública, ya que su tratamiento se vuelve mucho más complicado y se asocia con mayores tasas de morbilidad y mortalidad. Además, el uso incontrolado y empírico de antibióticos en la producción animal ha contribuido a la selección y diseminación de estos patógenos resistentes al resto del hato y a la población humana [22]. Dada la alta prevalencia de SARM obtenida en este estudio, se hace imperativo que las autoridades sanitarias y agropecuarias competentes implementen urgentemente medidas de vigilancia, prevención y control que permitan reducir la incidencia de estas infecciones, tanto en el sector pecuario como en la población humana. Las estrategias a desarrollar deben incluir el fortalecimiento de los programas de monitoreo de resistencia antimicrobiana, la optimización del uso de antibióticos en animales, el mejoramiento de las prácticas de bioseguridad en los hatos y la capacitación de los productores en el manejo adecuado de la mastitis.

Además de la resistencia a oxacilina, un porcentaje significativo de aislados mostraron resistencia a otros antibióticos, como tetraciclina, clindamicina y novobiocina. Este resultado es consistente con la tendencia de las cepas de *S. aureus* a desarrollar resistencia a múltiples fármacos [23], lo que representa un desafío importante para el tratamiento de las infecciones estafilocócicas y una amenaza significativa para la salud pública. Estudios recientes han informado de altos niveles de resistencia a diferentes clases de antibióticos, tales como macrólidos, lincosamidas y tetraciclinas.

En nuestro caso la resistencia a tetraciclina fue reportada en el 91.67% de las muestras. Esta situación refleja el uso excesivo e inapropiado de tetraciclinas en el tratamiento y prevención de infecciones en el ganado lechero. Por otra parte, el 25% de los aislamientos mostraron resistencia a clindamicina y novobiocina. Esta elevada resistencia compromete aún más las opciones terapéuticas disponibles para controlar las infecciones causadas por *S. aureus*. El hallazgo de que el 16.6% de los aislados de *S. aureus* exhibieron resistencia a ciprofloxacina y linezolid, este último considerado antibiótico de última línea para tratar infecciones estafilocócicas resistentes, es particularmente preocupante. La capacidad de estas bacterias para evadir los efectos terapéuticos de linezolid y ciprofloxacina, dos de las pocas opciones efectivas que quedan para manejar infecciones graves por *S. aureus*, complica en gran medida el tratamiento tanto en medicina veterinaria como humana. Esta situación es especialmente alarmante, ya que las infecciones causadas por cepas de *S. aureus* multirresistentes se asocian con tasas más altas de morbilidad y mortalidad, así como con mayores costos de atención médica y estancias hospitalarias prolongadas [24]. La amplia difusión de estos patógenos resistentes desde el sector ganadero a las poblaciones humanas es un problema crítico que requiere estrategias de intervención inmediatas y exhaustivas para mitigar el impacto en la salud pública. [31]

Afortunadamente, los hallazgos del estudio también revelaron que todos los aislados de *S. aureus* permanecieron susceptibles a trimetoprima-sulfametoxazol, azitromicina, cloranfenicol y rifampicina. Estos antibióticos pueden resultar ser valiosas alternativas para el manejo de casos de mastitis causados por *S. aureus* multirresistente, ya que parecen mantener actividad contra las cepas circulantes en el sector.

5 Conclusión

Los resultados de esta investigación han evidenciado la creciente preocupación por la resistencia antibiótica en *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis subclínica. La identificación y análisis de los perfiles de resistencia a través del Método Neutrosófico no solo permite una caracterización más precisa de las cepas bacterianas, sino que también resalta la complejidad de la resistencia en contextos ganaderos. Este método se presenta como una herramienta valiosa para comprender las dinámicas de la resistencia y facilitar el desarrollo de estrategias más efectivas de manejo y tratamiento.

La implementación de un plan integral de vigilancia, prevención y control de la resistencia antimicrobiana en el sector ganadero es urgente. Las medidas recomendadas, que incluyen el fortalecimiento de programas de monitoreo, la optimización del uso de antibióticos, la mejora de las prácticas de bioseguridad y la capacitación de los productores, son cruciales para contener esta amenaza.

Además, destacar la importancia de una colaboración más estrecha entre la medicina humana y veterinaria es fundamental. Esta sinergia permitirá abordar de manera más holística los problemas relacionados con la resistencia antimicrobiana y sus repercusiones en la salud pública.

El Método Neutrosófico representa un avance significativo en el análisis del perfil de resistencia antibiótica,

proporcionando datos cruciales para tomar decisiones informadas y promover prácticas que protejan tanto la salud animal como la pública. La investigación subraya que solo a través de un enfoque coordinado y multifacético se podrá enfrentar de manera efectiva el desafío de la resistencia antimicrobiana en el ámbito ganadero.

Referencias

- [1] N. Zaatout, and D. Hezil, "A meta- analysis of the global prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from clinical and subclinical bovine mastitis," *Journal of applied microbiology*, vol. 132, no. 1, pp. 140-154, 2022.
- [2] K. Thompson-Crispi, H. Atalla, F. Miglior, and B. A. Mallard, "Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics," *Frontiers in Immunology*, vol. 5, pp. 493, 2014.
- [3] W. Vanderhaeghen, T. Cerpentier, C. Adriaensen, J. Vicca, K. Hermans, and P. Butaye, "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows," *Veterinary microbiology*, vol. 144, no. 1-2, pp. 166-171, 2010.
- [4] F. Yang, S. Zhang, X. Shang, H. Li, H. Zhang, D. Cui, X. Wang, L. Wang, Z. Yan, and Y. Sun, "Detection and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis cases in China," *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no. 1, pp. 840-845, 2020.
- [5] A. Schnitt, and B.-A. Tenhagen, "Risk factors for the occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds: An update," *Foodborne pathogens and disease*, vol. 17, no. 10, pp. 585-596, 2020.
- [6] A. R. Khairullah, S. C. Ramandinianto, and M. H. Effendi, "A review of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) on bovine mastitis," *Syst Rev Pharm*, vol. 11, no. 7, pp. 172-183, 2020.
- [7] B. Puga-Torres, E. Aragón, A. Contreras, D. Escobar, K. Guevara, L. Herrera, N. López, D. Luje, M. Martínez, and L. Sánchez, "Analysis of quality and antibiotic residues in raw milk marketed informally in the Province of Pichincha-Ecuador," *Food and Agricultural Immunology*, vol. 35, no. 1, pp. 2291321, 2024.
- [8] A. Grajales Quintero, E. Serrano Moya, and C. Hahan Von, "Los métodos y procesos multicriterio para la evaluación," *Luna Azul*, vol. 36, no. 1, pp. 285-306, 2013.
- [9] F. Smarandache, "Neutrosophia y Plitogenia: fundamentos y aplicaciones," *Serie Científica de la Universidad de las Ciencias Informáticas*, vol. 17, no. 8, pp. 164-168, 2024.
- [10] O. Mar Cornelio, Y. Zulueta Véliz, and M. Leyva Vázquez, "Sistema de apoyo a la toma de decisiones para la evaluación del desempeño en la Universidad de las Ciencias Informáticas," 2014.
- [11] F. Smarandache, "Significado Neutrosófico: Partes comunes de cosas poco comunes y partes poco comunes de cosas comunes," *Serie Científica de la Universidad de las Ciencias Informáticas*, vol. 18, no. 1, pp. 1-14, 2025.
- [12] S. Broumi, and F. Smarandache, "Cosine similarity measure of interval valued neutrosophic sets," *Infinite Study*, 2014.
- [13] I. Deli, S. Broumi, and F. Smarandache, "On neutrosophic refined sets and their applications in medical diagnosis," *Journal of new theory*, no. 6, pp. 88-98, 2015.
- [14] M. R. Hashmi, M. Riaz, and F. Smarandache, "m-Polar neutrosophic topology with applications to multi-criteria decision-making in medical diagnosis and clustering analysis," *International Journal of Fuzzy Systems*, vol. 22, pp. 273-292, 2020.
- [15] J. F. Ramírez Pérez, M. Leyva Vázquez, M. Morejón Valdes, and D. Olivera Fajardo, "Modelo computacional para la recomendación de equipos de trabajo quirúrgico combinando técnicas de inteligencia organizacional," *Revista Cubana de Ciencias Informáticas*, vol. 10, no. 4, pp. 28-42, 2016.
- [16] B. Bron Fonseca, and O. Mar Cornelio, "Método para el análisis lingüístico de estadísticas médica," *Serie Científica de la Universidad de las Ciencias Informáticas*, vol. 18, no. 1, pp. 110-127, 2025.
- [17] R. Sahin, and M. Yigider, "A Multi-criteria neutrosophic group decision making metod based TOPSIS for supplier selection," *arXiv preprint arXiv:1412.5077*, 2014.
- [18] K. Sharun, K. Dhama, R. Tiwari, M. B. Gugjoo, M. Iqbal Yatoo, S. K. Patel, M. Pathak, K. Karthik, S. K. Khurana, and R. Singh, "Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review," *Veterinary Quarterly*, vol. 41, no. 1, pp. 107-136, 2021.
- [19] E. P. Guzñay Apugllon, "Diagnóstico microbiológico de la mastitis bovina y evaluación de tres alternativas de tratamiento en el criadero jersey "El Puente" de Chimborazo," 2021.
- [20] R. A. Moreira Mendoza, and Á. D. Solórzano Guerrero, "Agentes causales de mastitis en bovinos positivos de ganaderías adscritas a centro de acopio de lácteos y antibiorresistencia," Calceta: ESPAM MFL, 2023.
- [21] G. Rodríguez Martínez, "Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia," *Revista de Medicina Veterinaria*, vol. 1, no. 12, pp. 35-55, 2006.
- [22] M. Cuenca-Condoy, D. García-Bracho, L. Reinoso-García, J. González-Rojas, and J. Torracchi-Carrasco, "Detection of subclinic bovine mastitis and associated factors, in dairy farms of the province of Cañar-Biblián, Ecuador," 2021.

- [23] M. Hoque, Z. Das, A. Rahman, M. Haider, and M. Islam, "Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* strains in bovine mastitis milk in Bangladesh," *International journal of veterinary science and medicine*, vol. 6, no. 1, pp. 53-60, 2018.
- [24] A. L. Morales-Ubaldo, N. Rivero-Perez, B. Valladares-Carranza, V. Velázquez-Ordoñez, L. Delgadillo-Ruiz, and A. Zaragoza-Bastida, "Bovine mastitis, a worldwide impact disease: prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches," *Veterinary and animal science*, pp. 100306, 2023.
- [25] Vásquez, Á. B. M., Carpio, D. M. R., Faytong, F. A. B., & Lara, A. R. "Evaluación de la satisfacción de los estudiantes en los entornos virtuales de la Universidad Regional Autónoma de Los Andes". *Dilemas contemporáneos: Educación, Política y Valores*, 2024.
- [26] Romero, A. V., Sánchez, F. M., & Estupiñán, C. P. "Inteligencia artificial en gestión hotelera: aplicaciones en atención al cliente". *El patrimonio y su perspectiva turística*, pp. 409-423, 2024.
- [27] Márquez Carriel, D. C., Oña Garcés, L., Vergara Romero, A., & Márquez Sánchez, F. "Assessing the need for a feminist foreign policy in Ecuador through a sentiment analysis based on neutroAlgebra". *Neutrosophic Sets and Systems*, vol. 71, num. 1, pp. 16, 2024.
- [28] Vergara-Romero, A., Macas-Acosta, G., Márquez-Sánchez, F., & Arencibia-Montero, O. "Child Labor, Informality, and Poverty: Leveraging Logistic Regression, Indeterminate Likert Scales, and Similarity Measures for Insightful Analysis in Ecuador". *Neutrosophic Sets and Systems*, vol 66, pp 136-145, 2024
- [29] von Feigenblatt, O. F. "Research Ethics in Education. In *Ethics in Social Science Research: Current Insights and Practical Strategies*", pp. 97-105. Singapore: Springer Nature Singapore, 2025.
- [30] von Feigenblatt, O. F. "Immediacy and Sustainable Development: The Perspective of Youth". *Revista Mexicana de Economía y Finanzas Nueva Época REMEF*, vol. 19, num 2, 2024
- [31] de León, E. R., Marqués, L. L., Poleo, A., & von Feigenblatt, O. F. "El estilo del liderazgo educativo en el proceso de enseñanza: una revisión de la literatura". In *Anales de la Real Academia de Doctores*. vol. 9, num. 2, pp. 289-308, 2024

Recibido: febrero 20, 2025. Aceptado: marzo 10, 2025